



凍結初代細胞製品

骨髄単球前駆細胞（ラット）

【Monocyte Precursor Cell (Rat), 品番：BMMC】

2024年7月1日改訂

本製品は研究目的にのみご使用になれます。

I. 製品概要

骨髄単球（Monocyte）は、骨髄内で前駆細胞から分化し、各組織に入り免疫、組織修復などに大きく関与する Macrophage と呼ばれる細胞になります。

本製品は骨髄中の単球の前駆細胞を凍結したものです。M-CSF(Macrophage Colony Stimulating Factor)を含有する専用培地で単球に分化誘導できます。

II. 使用前注意事項

本マニュアルを使用前に必ずご確認ください。

本製品はすべて【無菌操作】で実施して下さい。バイオセーフティーレベルは【レベル1】です。

本製品の培養には別売の専用メディウムをご使用下さい。

III. 製品の保証について

細胞を液体窒素にて正しく保存し、専用メディウム及び試薬を用いてマニュアル通りに培養された場合のみ、培養開始後の増殖不良に関して保証致します。

保証期限は【製品お受け取りから6ヶ月以内】です。

メディウムや使用方法に変更を加えられた場合や、再凍結した細胞を使用された場合は、保証の対象になりませんのでご注意ください。

IV. 製品構成

構成	容量	本数	保存方法	使用期限
ラット骨髄単球前駆細胞	2×10 ⁶ cells/vial	1本	液体窒素保存	6ヶ月

※受け取り後、直ちにご使用にならない場合は凍結細胞を液体窒素にて保存してください。

V. 細胞の由来

ラット骨髄由来（SDラット、adult）

VI. 専用メディウム & 関連サプリメント（別売）

品名	品番	容量	保存方法	使用期限
洗浄用メディウム	BMMW	50 mL	-20℃保存 (解凍後は4℃保存)	ラベル記載(-20℃保存) 解凍後3か月(4℃保存)
培養用メディウム (M-CSF100ng/mL含有)	BMMG	25 mL	-20℃保存 (解凍後は4℃保存)	ラベル記載(-20℃保存) 解凍後は速やかに使い 切ってください

培地の主成分：α-MEM、血清、抗生物質、その他

※試験期間が長い場合には、メディウム解凍後に小分けして、冷凍保存してください。解凍後の再凍結は1回のみ可能です。それ以上の凍結・融解は品質劣化の原因になりますので避けてください。

品名	品番	容量	保存方法	使用期限
M-CSF ※1	AK39	20µg	-70℃保存	6か月

※1 M-CSFは、培養用メディウムに含まれる物と同一です。

VII. 操作方法

※本製品は【継代不可】です。

細胞解凍・播種

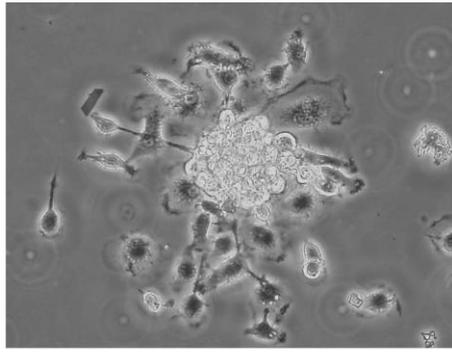
※下記は、12wellプレートで培養する場合のプロトコールになります。

※凍結細胞1バイアルにつき、12wellプレートで最大5well分に播種することができます

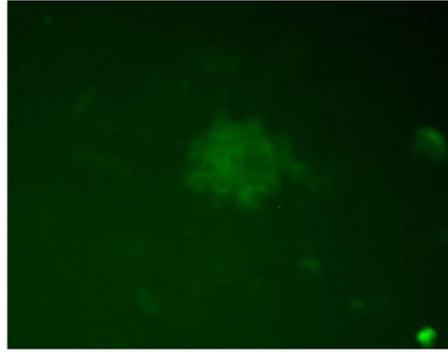
【準備するもの】

- ・洗浄用メディウム
- ・培養用メディウム
- ・浮遊培養用の12wellプレート（ハイドロセル セルシード社など）
- ・滅菌済ピペット、遠心チューブなどの培養器具

1. 培養開始する前に予め洗浄用メディウムと培養用メディウムは4℃(冷蔵庫等)で解凍してください。
2. 凍結細胞のバイアルを、37℃温水にて2分間加温して解凍してください。
3. 解凍した骨髓単球前駆細胞液は、洗浄用メディウム（品番：BMMW）・10mLを含む15mL遠心管へ添加し混合した後、4℃、430xgで5分間遠心してください。
4. 上清を除去し、洗浄用メディウム・10mLで再懸濁後、4℃、430xgで5分間遠心してください。
5. 上清を除去し、培養用メディウム（品番：BMMG、100µg/mL M-CSF含有）を5.5mL加え、細胞浮遊液を調製してください。
6. 12ウェルプレート（浮遊培養用）の場合、1ウェルあたり1mLずつ播種してください
 ※通常の細胞用培養容器では細胞が付着・伸展するため、ハイドロセル（セルシード社）などの低付着性容器で培養するのが好ましいです。
7. 5%CO₂存在下の37℃インキュベーターで培養してください。
 ※培養用メディウムは冷蔵と加温の繰り返しにより劣化しますので、培地交換時には必要量だけ取り分けて、室温に温めてご使用ください。
8. 始めは小さな細胞（数ミクロン）が、3~4日目ぐらいに大き目（10ミクロン程度）の細胞に変化してきます（図1）。さらに培養を続けると、数十個の細胞がクラスターを形成していきます。実験の目的に応じて目的の培養系に移して培養してください。



Phase Contrast



Anti-Mac1 FITC Staining

図 1. 細胞形態

VIII. 参考文献

- (1) Sunao Takesita, Keisuke Kaji, Akira Kudo. Identification and Characterization of the New Osteoclast Progenitor with Macrophage Phenotypes Being Able to Differentiate into Mature Osteoclasts. *J Bone Miner Res.*2000; 15(8): 1477-1488.